

125. Der Zusammenhang von Kalium- und Kohlehydratstoffwechsel bei der Hefe¹⁾

von R. Pulver und F. Verzář.

(5. VIII. 40.)

Der Kohlehydratstoffwechsel der Hefezelle hat für die Physiologie ein besonderes Interesse wegen seinen weitgehenden Analogien mit dem Kohlehydratstoffwechsel der Muskeln.

Nach Untersuchungen von *Willstätter* und *Rohdewald*²⁾, ferner von *Wertheimer* und *Mirski*³⁾, ist die erste Phase der Hefegärung eine Polysaccharid-Synthese, welche *Willstätter* als Glykogen-Synthese bezeichnet. Die Hefe nimmt bei Zusatz von Glucose diese zuerst mit grosser Geschwindigkeit aus der wässrigen Lösung auf, so dass nach wenigen Minuten fast 100% des Zuckers aus dieser verschwinden. Sie werden in der Zelle als Glykogen eingelagert. Erst dann beginnt die eigentliche Gärung durch Phosphorolyse bis zur schliesslichen Kohlendioxydbildung.

Auf Grund von Erfahrungen am Tier nahmen wir an, dass sowohl am Glykogenaufbau wie am Glykogenabbau auch Kalium beteiligt ist. Diese Frage soll im Folgenden untersucht werden; soweit uns bekannt ist, wurde sie bisher noch nicht gestellt. Wie sich aus dem Folgenden ergeben wird, zeigt die Hefezelle auch hier ein durchaus ähnliches Verhalten wie der quergestreifte Muskel der Wirbeltiere. Die relative Einfachheit der Verhältnisse gibt einen geradezu modellartigen Überblick über dieses Geschehen.

Die Beobachtungen des Tierversuches, welche zu dieser Fragestellung führten, waren die folgenden: Wenn man einem Kaninchen oder einer Katze Glucose intravenös injiziert, dann steigt mit dem Blutzucker auch das Kalium des Blutplasmas an, jedoch wird der Höhepunkt der Kalium-Steigerung immer erst nach dem Höhepunkt der Blutzuckerkurve erreicht⁴⁾. Es scheint, dass in einem gewissen Stadium der Zuckerassimilation Kalium aus dem Blut aufgenommen und in einem andern Stadium an dieses abgegeben wird.

Näheres über diesen Mechanismus liessen Versuche vermuten, in welchen gezeigt wurde, dass die Kalium-Aufnahme und -Abgabe von den Geweben nur dann stattfindet, wenn die sogenannten „selektiven Zucker“: Glucose, Fructose und Galaktose, injiziert werden, jedoch nicht, wenn äquimolare Mengen der „nicht selektiven Zucker“: Sorbose, Mannose oder Xylose, injiziert werden⁵⁾. Nachdem die selektive Zuckerresorption vom Darm aus und die selektive Zuckeraufnahme vom Blut in die Gewebe damit zusammen-

¹⁾ Vorl. Mitteilung: Verh. Schweiz. Physiol., 27. Jan. 1940, S. 23, und Nature, 145, 823 (Mai 1940).

²⁾ *Willstätter, R.* und *Rohdewald, M.*, Z. physiol. Ch. 247, 115 (1937); 225, 103 (1934); 247, 269 (1937); Enzymologia 8, 1 (1940).

³⁾ *Mirski, A.* und *Wertheimer, E.*, Enzymologia 7, 58 (1939).

⁴⁾ *Somogyi, J. C.*, und *Verzář, F.*, Helv. Med. Acta 1940, 20.

⁵⁾ *Somogyi, J. C.*, und *Verzář, F.*, Helv. Med. Acta 1940, 30.

hängt, dass diese Zucker in phosphorylierte Verbindungen übergeführt und schliesslich zu Glykogen aufgebaut werden¹⁾, so schien die Folgerung berechtigt zu sein, dass die Änderung des Kalium-Stoffwechsels mit dem Glykogen-Auf- und -Abbau zusammenhängt.

Weitere Anhaltspunkte waren die Befunde, dass bei der Kontraktion des quer-gestreiften Muskels Kalium an das Blut abgegeben wird. Auch der Stoffwechsel des Muskels wird auf Kosten von Glykogen geleistet. Es liegt deshalb nahe, anzunehmen, dass auch hier die Kalium-Abgabe aus einer bestimmten Phase des Glykogen-Abbaues stammt.

Bestärkt wurden wir schliesslich in dieser Annahme durch den weiteren Befund, dass der beim normalen Tier vollständig gesetzmässige Zusammenhang zwischen Kohlehydrat- und Kalium-Stoffwechsel aufhört, wenn ein Tier adrenaletomiert wird. Bei adrenaletomierten Katzen erhält man nach einer Glucose-Injektion keine Steigerung des Plasma-Kaliums²⁾. Ferner geben die Muskeln von adrenaletomierten Katzen bei der Kontraktion kein Kalium mehr ab³⁾⁴⁾ und ebensowenig bei der Reizung mit Acetylcholin, im Gegensatz zu normalen Muskeln⁵⁾. Die wesentliche Störung des Kohlehydratstoffwechsels von adrenaletomierten Tieren ist nach der gegenwärtigen Auffassung der mangelhafte Glykogenaufbau. Nach unseren Befunden muss man annehmen, dass das nebennierenlose Tier deshalb kein Kalium bindet, weil es kein Glykogen aufbauen kann, wobei wir offen liessen, ob es eine intermediäre Phase der Bildung von Phosphorsäureestern ist, bei welcher die Stoffwechselstörung einsetzt.

Wir haben deshalb untersucht, ob Hefe bei der Vergärung von Traubenzucker auch Änderungen ihres Kalium-Stoffwechsels zeigt. Zu Hefe-Emulsionen wurde, ähnlich wie das *Willstätter*⁶⁾ und *Wertheimer*⁷⁾ getan haben, Traubenzucker hinzugesetzt und nach verschiedenen Perioden in der zentrifugierten Lösung der Traubenzucker-Gehalt und der Kalium-Gehalt und zur Kontrolle in einigen Versuchen auch der Natrium-Gehalt bestimmt.

Methodik.

Die zu den Versuchen benützte Hefe war Bäckerhefe, die immer von derselben Stelle bezogen wurde. Sie wurde in gewaschenem und getrocknetem Zustand geliefert und, nie länger als einige Tage, kühl aufbewahrt.

Das Kalium wurde nach *Kramer* und *Tisdall*⁸⁾ bestimmt. In der reinen zentrifugierten Flüssigkeit genügt die Bestimmung durch direkte Ausfällung. Parallelbestimmungen mit Veraschung ergaben die gleichen Resultate.

Zur Bestimmung des Kaliums in der Hefe selbst musste diese mit Schwefelsäure verascht werden (*Clausen*)⁹⁾.

1) *Minibek, H.*, und *Verzár, F.*, *Helv. Med. Acta* **1940**, 7.

2) *Somogyi, J. C.*, und *Verzár, F.*, *Helv. Med. Acta* **1940**, 20.

3) *Somogyi, J. C.*, und *Verzár, F.*, *Verh. Schweiz. Physiol.*, 27. Jan. 1940, S. 25.

4) *Somogyi, J. C.*, und *Verzár, F.*, *Nature* **145**, 781 (1940); *Helv. Med. Acta* **1940** im Druck.

5) *Somogyi, J. C.*, und *Verzár, F.*, *Helv. Med. Acta* **1940** im Druck.

6) *Willstätter, R.* und *Rohdewald, M.*, *Enzymologia* **8**, 1 (1940).

7) *Mirski, A.* und *Wertheimer, E.*, *Enzymologia* **7**, 58 (1939).

8) *Kramer, B.*, und *Tisdall, F. F.*, *J. Biol. Chem.* **46**, 339, 1921.

9) *Clausen, S. W.*, *J. Biol. Chem.* **36**, 479, 1918.

Die Natriumbestimmung geschah nach *Butler* und *Tuthill*¹⁾ in der zentrifugierten Lösung.

Glucose wurde nach *Bertrand* bestimmt.

Um eine Orientierung über den Beginn und die Intensität des Gärungsprozesses zu haben, wurde die Kohlendioxyd-Entwicklung im *Barcroft-Warburg*-Apparat verfolgt. Der Zeitpunkt, in welchem die Kohlendioxydbildung beginnt, kann damit genau festgestellt werden.

Versuche.

I. Der Kaliumgehalt der Hefe.

Die zu unseren Versuchen benützte Bäckerhefe hat im Mittel von 8 Bestimmungen einen Kaliumgehalt von 0,3932%. Es wurden Werte von 0,33—0,49% gefunden.

Dieses Kalium wird beim Waschen nur zum Teil abgegeben, während ein anderer Teil mit grosser Konstanz festgehalten wird, wie das folgende Versuchsbeispiel zeigt:

Versuch 1. 1 g Bäckerhefe wurde in 5 cm³ dest. Wasser aufgeschlämmt, 10 Min. umgerührt und dann scharf abzentrifugiert. In der klaren Flüssigkeit wird das Kaliumion bestimmt und dann das Wässern in derselben Weise noch fünfmal wiederholt. Dabei wurden in den aufeinanderfolgenden Waschwässern die folgenden Kaliummengen gefunden. Jeder Wert ist das Mittel von drei Parallelversuchen.

Tabelle 1

1. Waschwasser enthält	0,796 mg K
2. „ „	0,316 „ „
3. „ „	0,087 „ „
4. „ „	0,060 „ „
5. „ „	0,043 „ „
6. „ „	0,034 „ „
Zusammen abgegeben	1,336 mg K

Der Kaliumgehalt von 1 g Hefe beträgt nach obigem 3,932 mg. Davon war 1,336 mg auswaschbar, entsprechend 30%.

Auch bei noch längeren Waschzeiten, bis zu 12 Stunden, wurden keine wesentlich grösseren Kalium-Mengen abgegeben.

Auch bei Waschen mit einer 0,325-proz. Natriumchlorid-Lösung war der Kaliumgehalt im vierten Waschwasser 0,051 mg, also nicht wesentlich verschieden.

Eine weitere Kontrolle wurde ausgeführt, um zu untersuchen, ob Kohlendioxyd-Entwicklung, bzw. Ansäuerung der Lösung einen Kalium-Austritt bedingt.

Versuch 2. Je 2 g Bäckerhefe wurden dreimal mit 10 cm³ 0,325-proz. Natriumchloridlösung gewaschen und darauf in 10 cm³ der gleichen Lösung suspensiert. Durch die eine Probe wird Kohlendioxyd durchgeperlt. Nach 15 Minuten wurden beide Proben

¹⁾ *Butler, A. M., und Tuthill, E., J. Biol. Chem. 87, 81, 1937.*

abzentrifugiert und in der Flüssigkeit das Kalium bestimmt. Ohne Kohlendioxyd wurde 0,17 mg Kalium, mit Kohlendioxyd 0,184 mg Kalium gefunden.

Demnach hat Kohlendioxyd keinen bemerkenswerten Einfluss auf die Kaliumabgabe.

Versuch 3. 100 g Bäckerhefe wurden in 200 cm³ 0,325-proz. Natriumchloridlösung aufgeschwemmt und die eine Hälfte ohne, die andere mit Durchleitung von Kohlendioxyd untersucht. Nach bestimmten Zeiten wurden Proben entnommen, zentrifugiert und in der klaren Lösung das Kalium bestimmt.

Tabelle 2.

Zeit Min.	ohne CO ₂ mg % K	mit CO ₂ mg % K
0	10,26	8,36
5	9,94	8,30
10	10,26	8,08
15	10,14	8,26
30	10,02	8,28
60	10,80	8,58
120	12,00	8,96
180	12,56	9,62
900	20,64	17,14

Das Durchleiten von Kohlendioxyd beeinflusst also die Kaliumabgabe nicht wesentlich. Es fällt in diesen Versuchsreihen auf, dass nach 15 Stunden der Kaliumgehalt der Lösung stark ansteigt, was wohl die Folge von einer eintretenden Autolyse ist und nicht mehr in den Bereich unserer Versuchszeiten gehört.

II. Hauptversuch.

Auf Grund des Versuches von *Willstätter*, der zeigt, dass die Hefezelle aus einer Glucoselösung zuerst mit beträchtlicher Geschwindigkeit die Glucose aufnimmt und diese intracellulär in ein Polysaccharid umwandelt und dass erst dann die Gärung beginnt, haben wir die folgende Versuchsanordnung gewählt, welche die Unterscheidung dieser beiden Phasen des Kohlehydratstoffwechsels gestattet. Besonderes Gewicht ist auf die Untersuchung der ersten Minuten nach dem Zuckerzusatz zu legen. Der Gärungsprozess muss durch plötzliches Abkühlen unterbrochen werden. Ferner mussten wir erreichen, dass die Kaliumabgabe der Hefe durch den Auswaschprozess den Versuch nicht stört, bzw. das leicht auswaschbare Kalium bereits vorher zum grössten Teil aus der Hefezelle in das Wasser diffundiert. Wir gingen deshalb in der folgenden Weise vor.

100 g Bäckerhefe wurden in 300 cm³ 0,325-proz. Natriumchloridlösung aufgeschlämmt und 5 Stunden stehen gelassen. Dann wurden je 50 cm³ Hefesuspension in *Erlenmeyer*-Kolben verteilt. In einer

solchen Hefesuspension ist fast alles auswaschbare Kalium bereits in Lösung und die Flüssigkeit hat einen in verschiedenen Versuchen mehr oder weniger konstanten Kaliumgehalt von etwa 20 mg %. (So z. B. in Versuch 116 12 mg %, Versuch 120 21,5 mg %.)

Zu diesen Suspensionen wurden nun je 20 cm³ Glucose in 2-proz. Lösung hinzugesetzt, so dass die Zusammensetzung der Lösung nun die folgende war: 1 Teil Hefe in 3 Teilen 0,325-proz. Natriumchlorid + 2 Teile 2-proz. Glucoselösung in destilliertem Wasser. Der osmotische Druck einer 0,325-proz. Natriumchlorid-Lösung und einer 2-proz. Glucoselösung ist der gleiche. Die osmotischen Verhältnisse ändern sich beim Zusatz des Zuckers also nicht wesentlich. Die Konzentration der Glucose ist am Anfang 0,57 %, das Verhältnis der Hefe zur Flüssigkeit 1 : 5.

Alle Versuche sind bei 20° C ausgeführt, wobei sowohl Zuckeraufnahme, als auch Vergärung rasch ablaufen. Um diese nach einer bestimmten Zeit zu unterbrechen, wurden entnommene Proben in unterkühltem Eiswasser rasch auf 0° gebracht und sogleich zentrifugiert.

Als Beispiel eines solchen Versuches führen wir Vers. 116 an, bei welchem der Vorgang dreimal wiederholt wurde, indem zur selben Hefeaufschlammung nach Ablauf der ersten Vergärung wieder Zucker hinzugesetzt wurde. Glucose und Kalium sind hier auf das Volumen von 5 cm³ umgerechnet, in welchem 1 g Hefe enthalten ist. In weiteren Kolonnen sind die Konzentrationen in mg % für beide, in den Lösungen, im Verlaufe der Gärung angegeben. Ferner ist in der letzten Kolonne eine Kontroll-Probe angeführt, in welcher die Hefe nur in 0,325-proz. Natriumchloridlösung, ohne Glucose, während gleich langer Zeit stand. Diese Kontrollen zeigen, dass in einer Kochsalzlösung im Laufe der Versuchszeit von 2 Stunden der Kaliumgehalt sich nicht ändert.

Das Resultat dieser Versuche, die noch sehr oft wiederholt wurden und immer in gleicher Weise ausgefallen sind, ist das Folgende: Die Glucose verschwindet aus der Lösung innerhalb 20 Minuten fast vollständig. Gleichzeitig nimmt der Kaliumgehalt auch sehr stark, bis auf die Hälfte oder weniger, ab. Nach etwa 10 Minuten fängt jedoch wieder ein Ansteigen des Kaliums in der Lösung an, das dann 2 Stunden lang anhält, so dass in diesen Versuchen wieder nahezu die Ausgangswerte erreicht werden. Der Anstieg des Kaliums in der Lösung beginnt bereits nach 10 Minuten, wenn die Abnahme der Glucose in der Lösung erst zu etwa $\frac{2}{3}$ fortgeschritten ist.

Es geht bereits aus diesen Versuchen hervor, dass derselbe Vorgang sich wiederholt demonstrieren lässt, wenn man im Intervall von einigen Stunden wieder dieselbe Zuckermenge zusetzt.

Tabelle 3.
Versuch 116.

Zeit in Min.	mg Glu- cose in 5 cm ³	mg K in 5 cm ³	mg Na in 5 cm ³	Blind- werte ¹⁾ mg K in 5 cm ³	Analysenwerte in mg %			
					Glucose	Kalium	Natrium	Kalium Blind- werte ¹⁾
0	31,8	0,609	2,23	0,608	636	12,18	44,6	12,16
½	31,2	0,595	—	0,610	624	11,90	—	12,20
1	30,7	0,579	—	—	614	11,58	—	—
2	28,2	0,512	—	0,615	564	10,24	—	12,30
5	23,7	0,404	—	—	474	8,08	—	—
9	13,7	0,395	—	—	274	7,90	—	—
14	1,2	0,390	—	0,619	24	7,80	—	12,38
20	—	0,462	2,20	0,610	—	9,24	44,0	12,20
30	—	0,495	2,28	0,615	—	9,90	45,6	12,20
60	—	0,598	2,20	0,620	—	11,96	44,0	12,40
120	—	0,700	2,29	0,624	—	14,00	45,8	12,48
2. Vergärung mit demselben Hefematerial nach erneutem Zuckerzusatz.								
0	30,0	0,961	1,52	0,952	600	19,22	30,4	19,04
2	28,7	0,918	—	—	574	18,36	—	—
4	27,5	0,898	—	—	550	17,96	—	—
6	25,0	0,849	—	—	500	16,98	—	—
8	22,5	0,677	1,55	—	450	13,54	31,0	—
10	19,4	0,350	—	0,941	388	7,00	—	18,82
12	13,1	0,414	1,50	—	262	8,28	30,0	—
15	5,0	0,423	—	—	100	8,46	—	—
18	2,4	0,434	1,51	—	48	8,68	30,2	—
24	1,9	0,441	—	—	38	8,82	—	—
30	—	0,477	1,51	0,954	—	9,48	30,2	19,08
40	—	0,519	1,58	—	—	10,38	31,6	—
60	—	0,623	1,50	—	—	12,46	30,0	—
120	—	0,714	1,54	0,960	—	19,20	30,8	19,20
3. Vergärung mit demselben Hefematerial nach erneutem Zuckerzusatz.								
1	30,7	0,956	1,30	0,958	614	19,12	26,0	19,16
5	24,0	0,729	—	—	480	14,58	—	—
10	12,0	0,564	—	0,960	240	11,28	—	19,20
15	2,85	0,504	1,39	—	57	10,08	27,8	—
25	0,9	0,535	1,40	—	18	10,70	28,0	—
120	—	0,844	1,31	0,964	—	16,88	26,2	19,28

Sehr schön sieht man das in Vers. 130 (Figur 1), in welchem mit demselben Hefematerial dreimal nacheinander der Versuch wiederholt wurde. Für die 2. und 3. Vergärung wurde hier die Glucose in Substanz zugesetzt. In der Ordinate sind die Mengen für Glucose,

¹⁾ Anstelle von Glucoselösung wurden 25 cm³ 0,325-proz. NaCl zugesetzt.

Kalium und Natrium in mg % angegeben. Die Abszisse gibt die Zeit in Minuten an. Die Figur zeigt, dass, wenn wir zu einer 20-proz. Hefeaufschlammung in 0,325-proz. Natriumchloridlösung etwa 0,6 % Glucose hinzusetzen, sowohl der Glucose- wie der Kaliumgehalt rasch abnehmen. Nach 15 Minuten beginnt dann ein langsames Ansteigen der Kalium-Kurve. Der Natrium-Gehalt der Lösung bleibt während dem ganzen Versuch praktisch konstant auf gleicher Höhe.

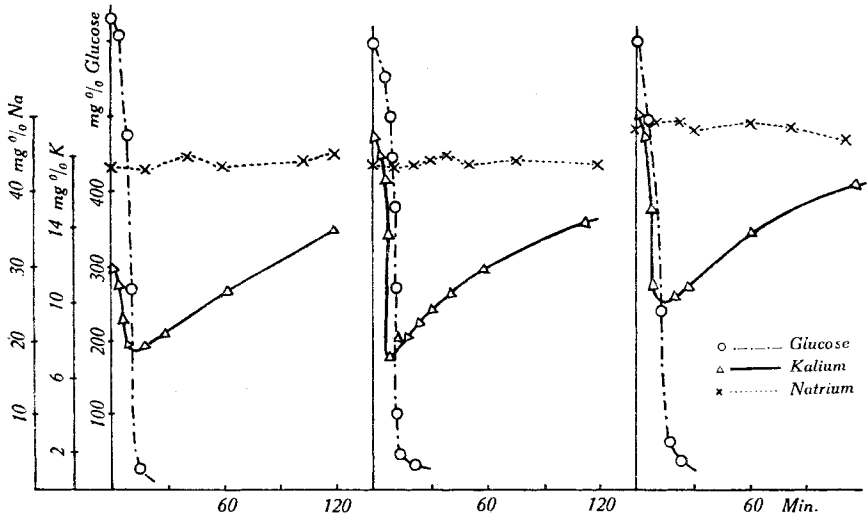


Fig. 1.

Besondere Messungen im *Barcroft-Warburg*-Apparat ergeben, dass die Kohlendioxyd-Entwicklung in diesen Versuchen nach 6—8 Minuten beginnt. Dieser Prozess ist von einer starken Verschiebung des p_H -Wertes begleitet. Nach Messungen von *Diamant*¹⁾ sinkt er nach 15 Minuten auf $p_H = 4,1$ und bleibt dann im Verlauf der weiteren Gärung konstant. Er ändert sich auch nach Ablauf des Prozesses nicht. Wenn man nach 24 Stunden abermals Glucose zusetzt, so ist schon von Anfang an der Wert von p_H 4,1 vorhanden. Dasselbe kann noch ein 3. Mal wiederholt werden. (Vgl. auch Vers. 1210, 1214, 1227, Tab. 5.)

III. Das Verhältnis der Kaliumaufnahme zur Zuckerkonzentration.

Die Zuckeraufnahme bzw. die Glykogenbildung in den Hefezellen findet bereits in den ersten 10 Minuten nach dem Zusatz von etwa 0,6 % Glucose statt. Dann beginnt bereits die Gärung. Die beiden Prozesse überschneiden sich also und die Kurve der Kaliumaufnahme und Kalium-Abgabe überlagern sich. Man kann deshalb

¹⁾ Nach *Mirski, A.*, und *Wertheimer, E.* *Enzymologia* **7**. 58. (1939) S. 65.

nicht erwarten, dass, wenn man die Zuckerkonzentration erhöht, die Kalium-Aufnahme auch proportional zunehmen werde, denn die Kalium-Abgabe wird diesen Effekt stören. Immerhin lässt sich in einem gewissen Bereich zeigen, dass um so mehr Kalium aufgenommen wird, je mehr Glucose in den ersten Minuten zu Glykogen umgeändert wird.

Versuch 117—120. Es wurde eine 25-proz. Hefesuspension hergestellt und längere Zeit mit destilliertem Wasser stehen gelassen, bis eine Konstanz des Kalium-Gehaltes in der Aussenflüssigkeit erreicht war. Versuch 120 ist der Kontrollversuch, in welchem gezeigt ist, dass die Kalium-Konzentration ohne Glucose-Zusatz während der Versuchszeit von 120 Minuten konstant blieb.

In den Versuchen 117, 118, 119 wurde so viel Glucose hinzugesetzt, dass die Konzentration 0,1 bzw. 0,2, bzw. 0,3% war. Von jeder Suspension wurden nach verschiedenen Zeiträumen je 10 cm³ entnommen und so wie in den früheren Versuchen durch momentanes Abkühlen der Gärungsprozess unterbrochen, die Flüssigkeit zentrifugiert und in 5 cm³ das Kalium bestimmt. Aus der Tabelle 4 ist klar ersichtlich, dass umso mehr Kalium aufgenommen wurde, als Glucose in der Lösung war, bzw., dass die Kalium-Aufnahme mit der Glucose-Aufnahme eine gewisse Parallelität zeigt.

Wir berechnen aus dieser Tabelle, dass pro 1 g Hefe nach 5 Minuten aufgenommen wird:

bei 0,1% Glucose: 5 mg Glucose und 0,240 mg Kalium
 „ 0,2% „ : 10 „ „ „ 0,466 „ „
 „ 0,3% „ : 15 „ „ „ 0,520 „ „

Es nimmt demnach 1 g Hefe in 5 Minuten mit 10 mg Glucose etwa 0,5 mg Kalium auf.

Es lässt sich daraus berechnen, dass, wenn 4 Molekeln der Glucose polymerisiert werden, ca. 1 Kaliumatom gebunden wird. Es wird eventuell möglich sein, auf diesem Wege zu verstehen, an welchem Teilprozess die Kalium-Bindung beteiligt ist. Im gegenwärtigen Stadium der Untersuchungen ist es noch zu früh, diese Frage weiter zu diskutieren.

Tabelle 4.

Zeit in Min.	mg % Kalium in der zentrifugierten Lösung			
	Versuch 117	Versuch 118	Versuch 119	Versuch 120
	Glucose 0,3%	Glucose 0,2%	Glucose 0,1%	Glucose 0%
0	22,1	22,06	22,10	21,50
5	11,7	12,74	17,30	—
10	11,6	13,58	17,54	—
15	10,98	14,06	17,64	22,06
20	11,4	14,50	19,06	—
30	—	15,12	20,10	22,08
120	21,8	19,32	20,30	22,16

IV. Die Wirkung von Giften auf Kohlehydratstoffwechsel und Kaliumstoffwechsel der Hefe.

Ein Weg, um zu verstehen, in welche Phase des Kohlehydratstoffwechsels das Kalium eingreift, besteht darin, dass man die Wirkung von Giften untersucht, die in bekannter Weise den Kohlehydratstoffwechsel beeinflussen. Wir verwendeten Jodessigsäure, Phlorrhizin, Natriumcyanid und Natriumfluorid.

Die Versuchsanordnung war die folgende: Die Hefe wurde 5 Stunden lang gewaschen. Dann wurde eine Aufschlammung 1:3 mit destilliertem Wasser hergestellt und wie früher zu je 50 cm³ 20 cm³ 2-proz. Glucoselösung gegeben. Die Gifte wurden bereits eine Stunde vorher zu der Waschflüssigkeit hinzugefügt, damit bei Versuchsbeginn die Zellen schon vergiftet sind. Das folgende Versuchsbeispiel zeigt das.

Versuch 1211—1216. 100 g Bäckerhefe werden in 300 cm³ Wasser suspendiert. Nach 3-stündigem Stehen wird zu Proben von je 50 cm³ jodessigsäures Natrium hinzugesetzt in den in der Tabelle angegebenen verschiedenen Konzentrationen von 0,0033-m. bis 0,0001-m. Nun wird die Suspension unter heftigem Schütteln eine Stunde stehen gelassen. Dann erfolgt der Zusatz von 20 cm³ 2-proz. Glucose. Dann wird auf 20° C gehalten und nach den angegebenen Zeiten (bis 2 Stunden) Proben von je 10 cm³ entnommen, in Zentrifugiergläschen gebracht, rasch auf 0° C abgekühlt und zentrifugiert. Von der erhaltenen klaren Lösung werden 2 cm³ zur Kalium-Bestimmung und 4 cm³ zur Zuckerbestimmung benützt. Mit einem *Barcroft-Warburg*-Manometer wird mit derselben Aufschlammung der Zeitbeginn der Gärung festgestellt.

In der Tabelle 5 ist der Zucker- und Kaliumgehalt der Lösung in mg % angegeben.

Parallel mit diesen Vergiftungsversuchen ist der Versuch 1210 mit derselben Hefe-Emulsion, aber ohne Gift-Zusatz durchgeführt, wobei nur Glucose in derselben Konzentration von etwa 0,6 % zugesetzt war. Das Kalium verschwindet in typischer Weise in den ersten 10 Minuten zugleich mit der Glucose aus der Lösung und steigt dann wieder an. Nach der 6. Minute beginnt die Kohlendioxyd-Entwicklung. Auch hier ist klar, dass der Zuckeraufnahme-Prozess und der Gär-Prozess sich überschneiden. Die Zuckeraufnahme ist nach 10 Minuten zu etwa 90 % und nach 20 Minuten zu 97 % abgelaufen. Die Kaliumkurve zeigt den Tiefpunkt bereits nach 10 Minuten, die Kohlendioxydentwicklung beginnt auch schon nach 6 Minuten.

Die Jodessigsäurewirkung ist in der Konzentration von 0,0033-m. eine vollständige Hemmung, sowohl von Zuckeraufnahme wie Vergärung.

Bei 0,001-m. sind beide Prozesse, aber besonders deutlich die Zuckeraufnahme sehr verlangsamt. Nach 10 Minuten sind kaum 10 % des Zuckers verschwunden und dementsprechend ist auch am Kalium keine Abnahme zu bemerken, dagegen scheint es, zusammen mit dem langsam eintretenden Gärungsprozess zuzunehmen. Noch deutlicher ist dieses Verhalten bei der Konzentration von 0,0005-m., wobei die Aufnahme der Glucose mehrfach verlangsamt ist. Eine Kaliumabgabe findet aber statt, entsprechend einem bereits in der 8. Minute einsetzenden, sehr geringen Gärungsprozess und verdeckt vollständig die Kalium-Aufnahme.

Eine deutliche Verlangsamung der Glucose-Aufnahme ist auch noch bei 0,0001-m. zu sehen. Parallel damit ist auch die Kaliumaufnahme verlangsamt.

Der Kontroll-Versuch 1117 zeigt, dass die Jodessigsäure selbst in der sehr wirksamen Konzentration von 0,0005-m. innerhalb dieser Versuchszeiten die Kalium-Abgabe der Hefe vollständig unbeeinflusst lässt. Die beobachteten Wirkungen kann man nur sehen, wenn neben der Jodessigsäure auch Glucose in der Lösung vorhanden ist.

Die Versuche zeigen sehr deutlich, dass die Jodessigsäurevergiftung primär die Polysaccharidbildung in der Hefe bzw. die Zuckeraufnahme hemmt. Hat eine noch so kleine Aufnahme von Glucose stattgefunden, so wird diese auch zu Kohlendioxyd vergoren. Es scheint uns von besonderem Interesse, dass also auch folgt, dass die Jodessigsäure nicht in den 2. Teil der Gärung, in die Kohlendioxydbildung eingreift, denn diese beginnt selbst bei den hohen Konzentrationen sogleich, wenn nur etwas Zucker aufgenommen worden war.

Tabelle 5.

Zeit in Min.	V. 1210		V. 1211		V. 1212		V. 1213	
	Zusätze							
	—		J.E.S. 0,0033-m.		J.E.S. 0,001-m.		J.E.S. 0,0005-m.	
	K mg %	Glucose mg %	K mg %	Glucose mg %	K mg %	Glucose mg %	K mg %	Glucose mg %
0	13,44	660	8,00	650	17,82	724	13,72	630
10	3,92	75	8,28	636	18,20	662	17,04	524
20	5,76	30	8,88	626	18,52	638	19,06	362
40	7,04	—	10,74	612	18,70	624	21,74	216
60	11,42	—	12,22	612	19,00	614	26,34	174
120	16,56	—	16,12	600	19,14	582	35,46	124
Beginn der CO ₂ - Entwicklung nach	6 Min.		—		12 Min.		8 Min.	

Aus den Versuchen folgt weiterhin, dass wenn die Zuckeraufnahme verlangsamt ist, auch die Kalium-Aufnahme gehemmt ist, dass also beide zusammengehören. Jodessigsäure hemmt oxydo-reduktive Phosphorylierungen (wie z. B. die von Lactoflavin durch Darmschleimhaut-Trockenpulver, nach *Pulver* und *Verzár*¹⁾). Man darf deshalb folgern, dass die Hefezelle das Polysaccharid aus Glucose über oxydo-reduktive Phosphorylierungen bildet. Das Kalium ist in diesen Prozess eingeschaltet.

Tabelle 5.

Zeit in Min.	V. 1114		V. 1115		V. 1116		V. 1117	
	Zusätze						ohne Glucose	
	J.E.S. 0,00025-m.		J.E.S. 0,00017-m.		J.E.S. 0,0001-m.		J.E.S. 0,0005-m.	
	K mg %	Glucose mg %	K mg %	Glucose mg %	K mg %	Glucose mg %	K mg %	Glucose mg %
0	12,90	620	13,74	630	14,58	620	10,30	—
10	11,34	500	8,26	424	6,02	312	11,38	—
20	9,80	340	5,88	162	5,00	124	11,44	—
40	11,70	200	6,64	12	8,40	10	11,50	—
60	13,04	100	9,96	—	10,14	—	11,76	—
120	19,14	50	16,56	—	16,32	—	11,78	—
Beginn der CO ₂ -Entwicklung nach	7 Min.		7 Min.		7 Min.		—	

Zeit in Min.	V. 1218		V. 1219		V. 1220		V. 1221	
	Zusätze							
	Phlorrh. 0,00133-m.		Phlorrh. 0,00067-m.		Phlorrh. 0,0002-m.		NaCN 0,0033-m.	
	K mg %	Glucose mg %	K mg %	Glucose mg %	K mg %	Glucose mg %	K mg %	Glucose mg %
0	16,06	574	15,28	550	13,30	640	8,00	650
10	6,02	162	6,78	200	4,30	100	7,16	636
20	4,04	6	3,50	40	4,82	12	6,02	426
40	9,90	—	8,64	—	6,04	—	5,70	236
60	12,90	—	11,88	—	11,54	—	7,24	6
120	17,56	—	17,22	—	14,58	—	10,36	—
Beginn der CO ₂ -Entwicklung nach	8 Min.		7 Min.		7 Min.		8 Min.	

¹⁾ *Pulver, R., und Verzár, F., Enzymologia 6. 333 (1939); Nature 145, 823 (1940).*

Tabelle 5.

Zeit in Min.	V. 1222		V. 1223		V. 1224		V. 1225	
	Zusätze							
	NaCN 0,002-m.		NaCN 0,0017-m.		—		NaCN 0,00083-m.	
	K mg %	Glucose mg %	K mg %	Glucose mg %	K mg %	Glucose mg %	K mg %	Glucose mg %
0	19,14	700	18,26	700	17,58	662	17,30	700
10	16,58	486	18,08	550	6,20	274	17,66	520
20	7,16	62	2,58	224	5,82	50	3,84	106
40	7,96	—	7,76	0	8,56	—	7,14	—
60	8,68	—	10,34	—	11,28	—	9,52	—
120	12,06	—	18,20	—	12,34	—	15,02	—
Beginn der CO ₂ - Entwicklung nach	7 Min.		6½ Min.		6 Min.		6 Min.	

Zeit in Min.	V. 1226		V. 1227		V. 1228		V. 1229	
	Zusätze							
	NaF 0,01-m.		NaF 0,0033-m.		NaF 0,002-m.		NaF 0,001-m.	
	K mg %	Glucose mg %	K mg %	Glucose mg %	K mg %	Glucose mg %	K mg %	Glucose mg %
0	24,68	600	13,54	662	15,62	620	15,28	600
10	21,32	450	12,50	586	15,94	424	13,38	300
20	21,70	374	11,24	400	14,58	286	7,66	20
40	22,68	234	9,90	226	13,82	—	14,58	—
60	23,40	—	17,10	34	16,28	—	15,00	—
120	30,80	—	30,10	—	22,90	—	20,76	—
Beginn der CO ₂ - Entwicklung nach	11 Min.		8 Min.		7 Min.		6 Min.	

Die Wirkung von Phlorrhizin.

Versuche 1218—1220 zeigen Untersuchungen nach Zusatz von Phlorrhizin in der Konzentration 0,00133-m., 0,00067-m. und 0,0002-m. Phlorrhizin gilt als Typus eines Phosphorylierungsgiftes, hat aber an der Hefe keine Wirkung, was sich jedenfalls daraus erklärt, dass es zu wenig diffundiert. Alle Versuche verliefen wie ohne Gift-zusatz.

Die Wirkung von Natriumcyanid.

In den Versuchen 1221, 1222, 1223, 1225 wurde 0,0033-m. bis 0,00083-m. Natriumcyanid zugesetzt. Erst bei der höchsten Konzentration von 0,0033-m. war eine Hemmung der Zucker-Aufnahme und

damit auch der Kalium-Aufnahme zu beobachten. Dem entspricht auch eine geringe Hemmung der Gärung. Schon bei 0,002-m. sind diese Wirkungen nicht mehr zu beobachten und haben deshalb keine spezifische Bedeutung.

Die Wirkung von Natriumfluorid.

In den Versuchen 1226—1229 ist die Wirkung von 0,01- bis 0,001-m. Natriumfluorid untersucht. Von 0,002-m. an wird die Zuckeraufnahme gehemmt, aber auch 0,01-m. hemmt sie nicht stärker als Jodessigsäurelösungen von 0,00025-m. Der geringen Glucose-Aufnahme entsprechend ist auch die Kalium-Aufnahme und -Abgabe bei diesen Konzentrationen und ebenso der Gärungsprozess wenig ausgesprochen. Die Wirkungen sind auch viel geringer als bei Jodessigsäure. NaF scheint primär die Glucose-Aufnahme zu hemmen. Weitere Versuche sind hier noch nötig.

Diskussion.

Die Frage, ob an dem Kohlehydratstoffwechsel der Hefe auch Kalium beteiligt ist, liess sich in diesen Versuchen tatsächlich mit Leichtigkeit beantworten. Jeder Glykogenbildung am Anfang des Gärungsprozesses entspricht eine Kalium-Aufnahme, jeder Glykogen-Zersetzung bei der eigentlichen Vergärung bis zum Kohlendioxyd entspricht eine Kalium-Abgabe der Hefezelle. Es liess sich zeigen, dass die Kalium-Aufnahme ihr Maximum bereits vor der maximalen Glucose-Aufnahme erreicht, weil bereits nach 6—8 Minuten, wenn die ersten Zuckermengen eingetreten sind, auch die Kohlendioxydbildung beginnt und dabei Kalium frei wird. Die Kalium-Abgabe dauert dann so lange an, bis die Gärung beendet ist.

Kontrollversuche haben gezeigt, dass es sich nicht um allgemeine Permeabilitätsänderungen für Salze handelt, denn während der Kalium-Gehalt der Lösungen diese auffallenden Änderungen zeigt, bleibt der Natrium-Gehalt konstant.

Ebenso haben Kontroll-Versuche gezeigt, dass die Veränderungen des Kalium-Gehaltes der Hefezellen nichts mit der Änderung der Wasserstoffionenkonzentration zu tun haben, die bei der Kohlendioxydbildung sich allerdings auf p_H 4 einstellt. Auch wenn von Anfang an die Hefeaufschwemmung diese Acidität hatte, verlief der Prozess in gleicher Weise.

Auch andere Stoffwechselprodukte der Hefe können keinesfalls die Ursache für eine veränderte Kaliumpermeabilität der Hefezelle sein. Denn wenn man mit derselben Hefeaufschwemmung den Gärungsprozess beliebig oft wiederholt, indem man, wenn die Kohlendioxyd-Bildung beendet ist, wieder Glucose hinzusetzt, dann bekommt man die typischen Änderungen des Kalium-Gehalts wieder. In diesen Fällen sind von Anfang an eventuelle Stoffwechselprodukte der Hefe in der Lösung vorhanden.

Es liess sich zeigen, dass um so mehr Kalium aufgenommen wird, je konzentrierter die Zuckerlösung ist, so dass auf etwa 10 mg Zucker-Aufnahme etwa 0,5 mg Kalium-Aufnahme pro 1 g Hefe stattfindet.

Ein gewisser Anhaltspunkt dafür, in welchem Teilprozess des Kohlehydratstoffwechsels die Kalium-Aufnahme eingeschaltet ist, lässt sich aus den Vergiftungsversuchen gewinnen. Insbesondere die Vergiftung mit Jodessigsäure gibt in grossen Verdünnungen (0,0005-m.) bereits eine charakteristische Hemmung der Zuckeraufnahme in die Hefezelle. Daraus folgt 1. dass Jodessigsäure den Glykogenaufbau bzw. die Polysaccharid-Bildung in der Zelle hemmt, was dafür spricht, dass diese mit oxydo-reduktiven Phosphorylierungen verbunden ist. 2. folgt aus diesen Versuchen, dass die Kalium-Aufnahme mit diesen Prozessen der Glykogenbildung gekoppelt ist. Wir möchten hervorheben, dass das dieselbe Folgerung ist, zu welcher wir auf Grund der Versuche über den Kohlehydrat- und Kalium-Stoffwechsel von normalen und adrenalektomierten Tieren gelangten, wie das einleitend beschrieben wurde.

Zusammenfassung.

1. Zwischen Kohlehydratstoffwechsel und Kaliumstoffwechsel der Hefezelle besteht ein enger Zusammenhang. In der ersten Phase der Gärung, bei der Glucose-Aufnahme und Polysaccharidbildung, nimmt 1 g Hefe mit 10 mg Glucose etwa 0,5 mg Kalium auf. Wenn nach etwa 10 Minuten die Kohlendioxidbildung beginnt, wird Kalium wieder abgegeben, so lange die Gärung dauert.

2. Bäckerhefe enthält 0,33—0,49 % Kalium und davon sind etwa 30 % auswaschbar.

3. Bei der Vergärung kleiner Zuckermengen gilt die Beziehung, dass um so mehr Kalium aufgenommen wird, je mehr Zucker der Hefesuspension zugesetzt wird.

4. Kontrollversuche zeigen, dass es sich nicht um allgemeine Permeabilitätsänderungen und nicht um Wirkungen der Stoffwechselprodukte handelt.

5. Phlorrhizin hatte keine, Natriumcyanid und Natriumfluorid nur eine geringe Wirkung auf diese Vorgänge.

6. Jodessigsäure hatte in grossen Verdünnungen eine charakteristische Wirkung, indem sie die Zucker-Aufnahme und mit dieser auch die Kalium-Aufnahme ausserordentlich verlangsamt bzw. vollständig hemmt. Damit ist der Beweis erbracht, dass die Kalium-Aufnahme zu dem Glykogen-Aufbauprozess gehört, der seinerseits wieder aus oxydo-reduktiven Phosphorylierungen besteht.

Basel, Physiologisches Institut der Universität.
